

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Tâches	2007	2008		2009	2010	Commentaires
		S1	S2	S1/S2		
QTL analysis on PB260 x MDF180 (French Guiana pop.)		⌘	⌘	/ ⌘	Δ	Détection de QTL sur MDF180 réalisée sur carte SSR et AFLP, réalisée ; à finaliser avec données inoculation en cours d'acquisition (Guyane)
DNA extraction and paternity testing on new progenies			⌘	⌘ /		Trois nouvelles descendance du Brésil pour carto. : descendants supplémentaires de PB260 x FX2784 du Mato Grosso (PEM) ; desc. sup. de PB260 x MDF180 de Bahia (PMB) ; nouveau croisement W x FDR5597 de PMB. Envoi de feuilles à Montpellier (09/08, 03/09 et 05/09) ; extractions d'ADN et tests de paternité de 738 descendants : 721 certifiés légitimes par SSR (2% d'illégitimes)
SSR mapping on PB260 x MDF180 (PMB pop.) and on WxFDR5597 progenies				/ ⌘	▲	PB260xMDF180-PMB : 84 SSR génotypés sur les 171 F1 légitimes ; 80 à génotyper. WxFDR5597 : 75 SSR génotypés sur 269 F1 légitimes ; 100 à génotyper
QTL analysis on 3 progenies				/ ✕	Δ	PB260xRO38 ; PB260 x MDF180 de PMB ; WxFDR5597
(Fine)-mapping of SSR on PB260 x FX2784 (PEM pop.)			⌘	⌘ /		Génotypage de 12 marqueurs SSR au lieu de 8, réalisé plus tôt que prévu sur 284 descendants légitimes ; évaluation complémentaire de la résistance au champ en cours (PEM)
Cirad + Michelin (Montpellier) : sous projet 3 (Gènes candidats)						
EST-SSH libraries related to the RO38 resistance: DNA sequencing and data mining	(⌘)	⌘	⌘	⌘ /		9216 clones d'EST de 6 banques SSH produits et séquencés (V. Pujade-Renaud, Cirad, Montpellier). Data mining : voir ci-dessous.
EST-SSH libraries related to the RO38 resistance: expression analysis		⌘	⌘	⌘ / ⌘	▲	Analyse par macro-arrays : finalisation de l'analyse de données pour le point de cinétique 24h après infection ; hybridation des membranes et analyse de données réalisée pour le point 48h après infection ; sélection d'une première liste de 52 gènes candidats
EST-SSH libraries related to the MDF180 resistance: data mining		⌘	⌘	⌘ /		6959 séquences d'EST de 4 banques SSH fournies par l'UESC (D. Garcia, Brésil) ; data mining de l'ensemble des 15515 séquences produites à l'UESC et à l'UMR-dap : set unigène de 6992 séquences
EST-SSH libraries related to the MDF180 resistance: results of expression analyses				⌘ / ⌘		Séquences produites à l'UESC et membranes haute densité produites au CENARGEN (Brasilia) par D. Garcia. Analyse d'expression par hybridation faite à Montpellier (UMR-dap). Mise à disposition du projet d'un set de 311 gènes candidats.
Cirad + Michelin (Montpellier) : sous projet 2 (Développement de marqueurs)						

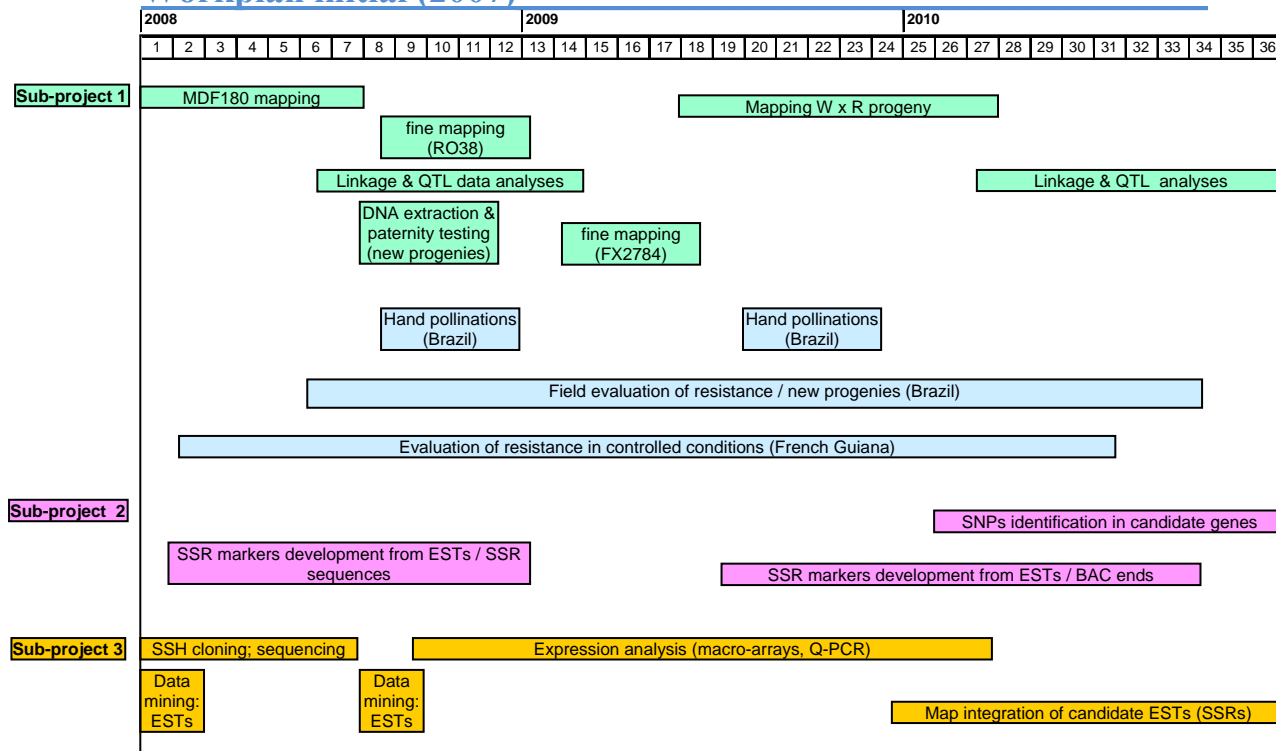
	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Tâches	2007	2008		2009	2010	Commentaires	
		S1	S2	S1/S2			
Search for SSR sequences in ESTs; test for polymorphic PCR markers		⌘	✖	⌘ / ⌘		Analyse d'EST d'hévéa disponibles dans EMBL réalisée ; tests de polymorphisme de 43 EST-SSR et identification de 32 EST-SSR polymorphes (stage M2 de K. Bouchata)	
Search for polymorphic markers in candidate ESTs				⌘ / ⌘	▲	Envoi à séquencer de 21 BAC pour la recherche de SSR (12/09) ; identification et génotypage de SNP par HRM et/ou séquençage Sanger en 2010 comme prévu.	
Map integration of candidate ESTs				⌘ / ⌘	▲	Bin-mapping de 32 EST-SSR sur la carte PB260xRO38 ; 19/32 cartographiés sur la descendance PB260xMDF180 de Guyane (stage M2 de K. Bouchata)	
Cirad (Kourou, Guyane) :							
Resistance evaluation of the 300 additional PB260xRO38			✖	/ ✖	▲	Evaluation de la Résistance (R) au champ des 118 F1 PB260xFX2784 réalisée antérieurement ; tests R en conditions contrôlées sur ces descendants remplacés par tests sur 196 F1 PB260xMDF180, à l'aide d'une souche équatorienne de <i>M. ulei</i> (opération achevée) tests sur PB260xRO38 reportés en années 3 (02/10 -> 12/10).	
Resistance evaluation of the 118 F1 PB260xFX2784	(⌘)				✖		
<i>Resistance evaluation of 196 F1 PB260xMDF180</i>			⌘	⌘ / ⌘	▲/		
Michelin (Plantation Edouard Michelin - PEM, Plantation Michelin de Bahia - PMB, Brésil) :							
Crosses by hand pollinations, Brazil			⌘	/ ?		15329 pollinisations réalisées en 2009	
Field resistance evaluation of 3 progenies: PB260xFX2784 (PEM), PB260xMDF180 and Wx FDR5597 (PMB)	(⌘)	⌘	⌘	⌘ / ⌘	▲	Voir ci-dessus "Paternity testing" ; 12 passages d'observations au champ sont planifiées entre 2008 et 2010. 8 passages réalisés en 2008 et 2009, 4 passages programmés pour 2010.	
▲	Prévu	▲	Reprévu	✖	Abandonné	⌘	Réalisé

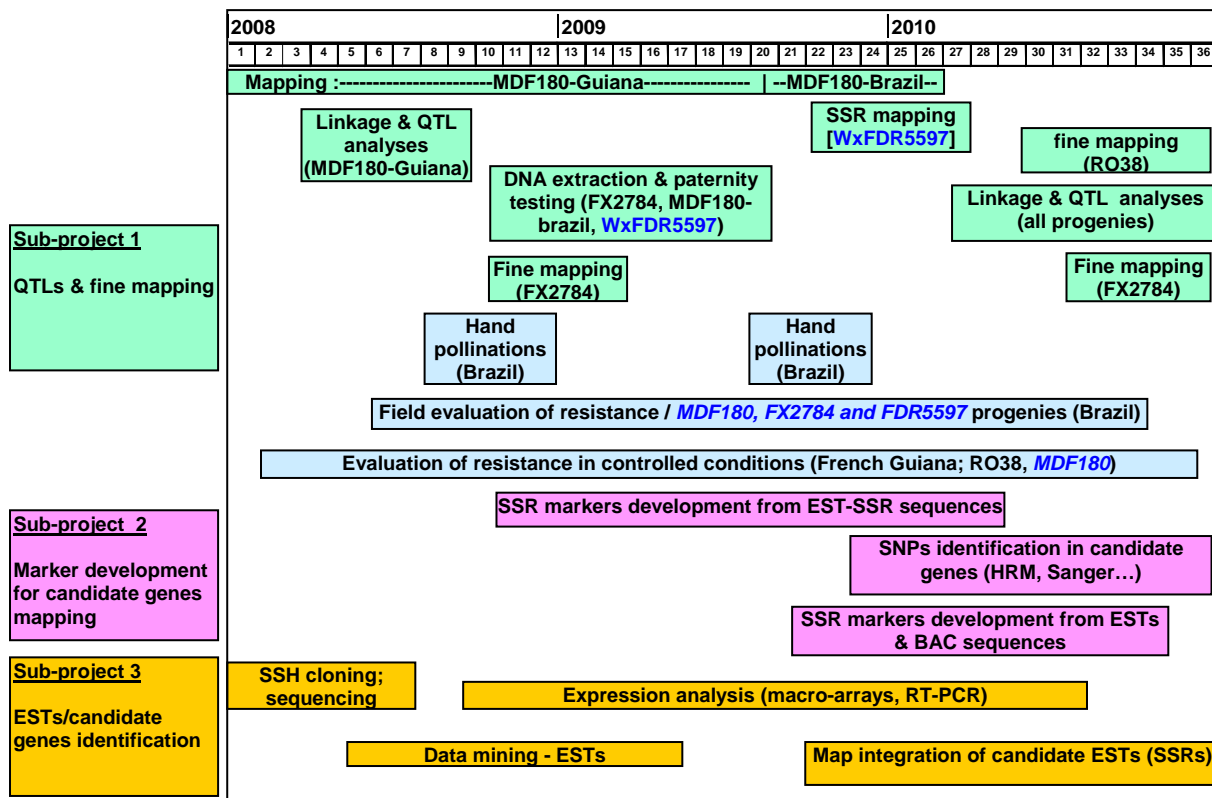
Indiquer les dates des réunions des projets :

* Ce tableau décrit les principales taches et livrables du projet qui ont été définis lors du démarrage du projet.

Workplan initial (2007)



Updated work plan (December 2009)



	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

C. Retombées cumulées sur la durée du projet

Cette section rassemble des éléments cumulés qui seront suivis tout au long de l'avancée du projet et repris dans son bilan. Ils permettent d'apprécier l'impact du programme à différents niveaux. Cette section est constituée d'un tableau des publications¹, et d'une liste de résultats éventuellement plus qualitatifs.

Nombre de publications et de communications cumulées sur la durée du projet.

Faire la séparation des actions impliquant un seul partenaire et celles résultant d'un travail en commun (« multipartenaires »)

	International		France		Actions de diffusion		
	Articles acceptés dans des revues à comité de lecture	Communications Internationales	Articles France	Communications France	Articles vulgarisation	Conférences vulgarisation	Autres Rapports de masters & thèse :
Mono-partenaires	1 en cours de rédaction			1			4
Multi-partenaires		1		1			

Références bibliographiques complètes correspondant au tableau ci-dessus :

Communications :

- Berger A, Déon M, Doaré F, Goujon E, Garcia D, Seguin M, Pujade-Renaud V (2010). Identification de gènes candidats impliqués dans les processus de résistance de l'hévéa à *Microcyclus ulei* par la technique des macroarrays. In: *Journées Jean Chevaugneon*, Aussois, 25-29 Janv 2010. Poster
- Le Guen V, Garcia D, Doaré F, Weber C, Chambon A, Seguin M (2009) Natural pyramiding provides rubber tree with durable resistance to South American Leaf Blight. In: *Plant-GEM 8, Lisbon 2009*, 7-10 October 2009, Lisbon, Portugal. Poster n° S2.P.16, abstract p.94.
- Seguin M, Argout X, Cavaloc E, Doaré F, Espéout-Fois S, Fonseca F, Garcia D, Granet F, Le Guen V, Mattos C, Pujade-Renaud V, Weber C (2008) GENESALB: Genetic analysis of resistance to South American Leaf Blight – SALB (*Microcyclus ulei*) in rubber tree (*Hevea* spp.). In: *Séminaire Génoplante 2008*. 1-3 Avril 2008, 1p. Arles, France [Poster]

Rapports de masters et thèses:

- Bouchata Karima (2009) Cartographie de gènes candidats associés à la résistance de l'hévéa à *Microcyclus ulei*. *Rapport de stage de Master 2*, Génomique, Ecophysiologie et Production Végétale, Université Blaise Pascal / Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, 54p.
- Goujon Eric (2009) Mises-au-point méthodologiques en vue de la validation par PCR en temps réel de gènes différentiellement exprimés lors de l'interaction entre l'hévéa et *Microcyclus ulei*. *Rapport de stage de Master 1*, Génétique & Physiologie, Université Blaise Pascal / Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, 36p.
- Déon Marine (2008) Mise en place de la technique des macroarrays pour l'identification de gènes candidats impliqués dans la résistance de l'hévéa à *Microcyclus ulei*. *Rapport de stage de Master M2 Professionnel*. Master Biologie, Géoscience, Agronomie, Environnement, Spécialité : Biologie et Evolution des Plantes, Université Montpellier II, 39p.

¹ La date de référence est la date de fourniture du rapport.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Le Guen Vincent (2008) Exploration de la diversité des résistances génétiques à la maladie sud-américaine des feuilles de l'hévéa (*Microcyclus ulei*) par cartographie et génétique d'association au sein de populations naturelles. *Thèse de doctorat*, Université Montpellier II, Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques de Montpellier, 186p.

Article :

Le Guen V., Garcia D., Doaré F., Condina V., Couturier C., Weber C., Espéout S., Seguin M. Genetic mapping for major gene and QTLs of resistance to South American Leaf Blight due to *Microcyclus ulei*, in a highly resistant rubber tree cultivar. En préparation

Autres publications et communications sur les ressources moléculaires, mises à disposition du projet dans le cadre du partenariat Cirad – UESC (Brésil), mais n'émargeant pas au projet :

	International		France		Actions de diffusion		
	Articles acceptés dans des revues à comité de lecture	Communications Internationales	Articles France	Communications France	Articles vulgarisation	Conférences vulgarisation	Autres
monopartenaires		3					
multipartenaires	1 en cours de rédaction						

Références bibliographiques complètes correspondant au tableau ci-dessus :

Communications :

Koop D.M., Conceição L., Cardoso S.E.A., de Sousa L.A., Silva D. da C., Garcia D. (2009) Estudo histológico e molecular da morte celular programada (PCD) na interação *Hevea – Microcyclus ulei*. XLII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Rio de Janeiro (Brasil). 3 a 7 agosto de 2009. Tropical Plant Pathology. Vol. 34. S257. Poster 868.

Argout X., Garcia D., Montoro P., Pujade-Renaud V., Ruiz M., Seguin M., Sidibé Bocs S. (2009). Statement of transcriptomics and bioinformatics analyses conducted at CIRAD in rubber tree: towards the genome analysis. In: *Hevea genome and transcriptome. IRRDB Workshop on Hevea Genome and Transcriptome*. Book of abstracts. Montpellier, France: Cirad, IRRDB, IFC, p. 49 (1 p.). 2009/06/03-05, Montpellier, France.

Garcia D., Carels N., Araújo L.d.S., Koop D.M., Pujade-Renaud V., Silva D.d.C., Mattos C.R.R., Cascardo J.C.M. (2009). Transcriptome comparison of resistant and susceptible *Hevea brasiliensis* cultivars infected by *Microcyclus ulei*. In: *Hevea genome and transcriptome. IRRDB Workshop on Hevea Genome and Transcriptome* Book of abstracts. Montpellier, France: Cirad, IRRDB, IFC, p. 30-48. 2009/06/03-05, Montpellier, France.

Article :

Garcia D., Carels N., de Sousa L.A., Sizenando Andrade S.J., Pujade-Renaud V., Mattos C.R.R., Cascardo J.C.M. Profiling of genes from *Hevea brasiliensis* involved in the resistance to *Microcyclus ulei*. En préparation.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Autres retombées (voir en particulier celles annoncées dans l'annexe technique) :
Cette liste inventorie les brevets nationaux et internationaux, licences, et autres éléments de propriété intellectuelle consécutifs au projet, du savoir faire, des retombées diverses. . Elle en précise les partenariats éventuels.

Nature	Commentaire
Carte de 177 SSR et 200 AFLP de PB260xMDF180	Destiné au domaine public
Deux QTL majeurs identifiés chez MDF180 en Guyane	Destiné au domaine public
9120 séquences d'ESTs exprimés en relation avec la résistance/sensibilité (SSH)	Destiné à terme au domaine public ; accès restreint aux partenaires du projet jusqu'à analyse complète des séquences
1 set de 6992 uni-gènes issus de la compilation des banques EST du Cirad et de l'UESC	Destiné à terme au domaine public ; accès restreint aux partenaires du projet jusqu'à analyse complète des séquences
Liste de 52 gènes candidats issus des banques EST/SSH de PB260 vs RO38	Destiné au domaine public
Liste de 311 gènes candidats issus des banques EST/SSH de PB314 vs MDF180, produits par UESC – Cirad, Brésil (D. Garcia)	Destiné au domaine public ; mise à disposition du projet dans le cadre du partenariat Cirad –UESC, hors contrats de partenariat Génoplante 2010

D. Faits marquants du semestre écoulé (principaux résultats)

Réunion du Comité de Pilotage (CP) : conformément à ce qui avait été annoncé dans le précédent compte-rendu semestriel, une réunion du CP a eu lieu à Clermont-Ferrand le 24 Septembre 2009. Participants : Dominique Laborde (Génoplante) ; Françoise Granet, Cassio Scomparin (remplaçant d'Eric Cavaloc), Philippe Cubry (Michelin) ; Valérie Pujade-Renaud, Angélique Berger, Vincent Le Guen, Marc Seguin (Cirad).

La prochaine réunion du CP devrait avoir lieu mi-2010.

1- Identification de gènes candidats par analyse d'expression en macroarrays (A. Berger, D. Garcia, V. Pujade-Renaud) :

1.1- Résultats d'analyse d'expression des EST-SSH issus des banques PB314 vs MDF180 (UESC) : Les membranes haute densité (produits PCR cDNA), faites au Brésil, ont été hybridées à Montpellier (UMR-dap) avec des cibles (P^{33} -cDNAs) préparées à partir de lésions foliaires (jeunes, intermédiaires et âgées) provoquées par des infections naturelles de *M. ulei* et de feuilles saines des clones MDF180 et PB314. A partir des données brutes, une méthode de normalisation non paramétrique et dépendante de l'intensité basée sur l'identification d'un groupe de gènes *self-consistent* (*self-consistent set* ; SCS) a été utilisée (Dawes NL and Glassey J 2007, Comparative and Functional Genomics, ID 90578:12p.). Le SCS représente tous les gènes dont l'expression est constante quelle que soient les conditions d'inoculation (avec ou sans inoculation par *M. ulei*), la cinétique de la maladie (lésions jeunes, intermédiaires ou âgées) ou le génotype utilisé (MDF180 ou PB314). A partir des valeurs du

SCS, le taux d'expression pour chaque gène a été calculé, converti en base log2 et statistiquement analysé. Trois cent onze gènes dont le ratio était supérieur à 2 ou inférieur à -2 ont été considérés comme différentiellement exprimés. Le regroupement en cluster des gènes présentant le même profil d'expression a été obtenu grâce au programme *CLUSTER package analysis* (Eisen *et al.* 1998, PNAS, 95:14863-14868) et visualisé grâce au programme *TreeView*. Quatre clusters ont été détectés. Le cluster I comprend 169 gènes (54.5%) surexprimés dans les jeunes lésions de MDF180 suivi d'une réduction du nombre de transcrits comparativement aux lésions de PB314. Le cluster II est composé de 32 gènes (10%) et se caractérise par une augmentation d'expression dans la phase intermédiaire de l'infection chez MDF180. Le cluster III regroupe 25 gènes (8%) surexprimés chez PB314 dans la phase tardive d'infection. Les clusters IVa et b comprennent respectivement 15 et 32 gènes (5 et 10%) surexprimés dans la phase précoce ou intermédiaire chez PB314. Le cluster IVc est constitué de 39 gènes (12.5%) induit dans la phase tardive ou précoce chez MDF180 et dans la phase intermédiaire chez PB314.

1.2- Analyses d'expression des EST-SSH issus des banques PB260 vs PB260 (Cirad). La poursuite en 2009 des analyses d'expression par macro-arrays a conduit à l'identification de 52 gènes candidats. Ces analyses se heurtent à un problème de forte variabilité de la qualité des hybridations. Néanmoins, une liste de gènes candidats a pu être établie pour les points de cinétique 24h et 48h post-inoculation, pour les banques « PB260 vs RO38 ». Les données d'hybridation restent partielles pour les points 12h et 96h. Les analyses vont être poursuivies à partir de nouveaux échantillons de feuilles préparés en Guyane afin de compléter les données manquantes.

Ainsi, on dispose à ce jour d'une liste de $311+52=363$ gènes candidats à intégrer dans les cartes des croisements PB260xMDF180 et WxFDR5597 en priorité. Le développement de marqueurs polymorphe à partir de ces séquences se fera d'abord par recherche d'EST-SSR, puis par recherche de SNP par HRM et/ou séquençage Sanger. Tous ces candidats ne pourront sans doutes pas être cartographiés au cours de la dernière année (2010) du projet et une sélection sera faite d'après leur type de profil d'expression (sur ou sous-exprimés chez le parent résistant ou chez le sensible...) ou de leurs homologies de fonction.

2- Développement de marqueurs EST-SSR (sous projet 2) :

Résumé des travaux de Karima Bouchata (stage de M2, encadrement V. Pujade-Renaud et P. Cubry). Sur les 6992 unigènes des 10 banques SSH (« PB260 vs RO38 » et « PB314 vs MFF180 »), 289 séquences EST-SSR ont été identifiées grâce au logiciel ESTtik ; 76 ont été sélectionnées, sur la base de recherches bibliographiques d'après leurs homologies de séquence (53%) ou aléatoirement (10% de « no hit » et 37% de « unknow function », en conservant les proportions globales de la base de données). 25 couples d'amorce se sont révélés polymorphes parmi lesquels 19 ont pu être cartographiés. Aucun des marqueurs cartographiés ne co-localise avec des QTLs de résistance. Par contre, ils contribuent à densifier les cartes génétiques dans des régions jusque là pauvres en marqueurs. Ces travaux ont permis par ailleurs de tester la stratégie de cartographie prédictive du « bin mapping » ou cartographie sélective. Un résultat est que le taux de polymorphisme des marqueurs EST-SRR est pratiquement équivalent à celui des marqueurs génomiques ce qui augmente le nombre de gènes candidats que l'on pourra cartographier par cette méthode qui est de loin la plus facile et la moins coûteuse à mettre en œuvre.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

E. Description des travaux effectués et résultats obtenus pendant la période concernée. Conformité de l'avancement des travaux avec le plan initialement prévu. Prévision de travaux pour la (les) prochaine(s) période(s). Eventuellement, difficultés rencontrées et solutions de remplacement envisagées (15 lignes maximum) ex : impasse technique, abandon d'un sous traitant, maîtrise des délais, maîtrise des budgets. Faut-il revoir le contenu du projet ? Faut-il revoir le calendrier du projet ?

- 1- Cartographie AFLP de la descendance PB260xMDF180 de Guyane (S. Espéout, M. Seguin / sous-projet 1). Les 351 descendants ont été génotypés à l'aide de 11 couples d'amorces AFLP, fournissant 212 marqueurs dont 110 hétérozygotes chez PB260 et 120 chez MDF180. L'intégration de ces marqueurs dans la carte SSR a été réalisée à l'aide du logiciel JoinMap 3. Deux cents AFLP dont 95 chez le parent résistant MDF180 ont été intégrés après élimination des marqueurs fortement distordus. La carte MDF180 comprend 256 marqueurs répartis sur 8 groupes de liaison correspondant aux 18 chromosomes de l'hévéa.
- 2- Tests de légitimité des nouvelles descendance (C. Mattos, S. Espéout, V. Le Guen / sous-projet 1). La légitimité des descendance a été établie pour la totalité du matériel végétal nécessaire à la réalisation du sous-projet 1 (voir tableau).

Tableau : Bilan des effectifs et des tests de légitimité des nouvelles descendance

Nombre de descendants	vivants / total	feuilles reçues	ADN extrait & test PCR	légitimes [nombre (%)]
Descendance				
PB260xFX2784 PEM	294 / 294	294	285	<u>281 (99)</u>
PB260xMDF180 PMB – CES2	135 / 152	115	114	114 (100)
PB260xMDF180 PMB – CES4	64 / 70	63	63	52 (83)
PB260xMDF180 PMB – collection	5 / 5	5	5	5 (100)
PB260xMDF180 PMB - total	204 / 227	183	182	<u>171 (94)</u>
PB235xFDR5597	249 / 261	203	202	200 (99)
IRCA130xFDR5597	99 / 124	71	69	69 (100)
WxFDR5597 total	348 / 385	274	271	<u>269 (99)</u>
Total	846 / 906	751	738	721 (98)

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Les feuilles ont été reçues à Montpellier à partir des 2 plantations Michelin (PEM et PMB) du Brésil entre Septembre 2008 et Mai 2009. Après extraction de l'ADN, la légitimité a été contrôlée par PCR à l'aide de 12 (PB260xFX2784) ou 26 marqueurs SSR. Un très faible taux d'illégitimes a été observé, donnant un nombre suffisant d'individus pour les travaux de cartographie QTL programmés pour fin 2010.

3- Cartographie SSR des 3 nouvelles descendances (S. Espéout, P. Cubry, V. Le Guen, M. Seguin/ sous-projet 1) :

3.1 PB260xFX2784 – PEM : Les 12 marqueurs ayant servi au test de légitimité avaient été choisis sur le groupe de liaison g2 où est localisé le gène de résistance identifié chez FX2784 en Guyane (M2-FX). Ces mêmes marqueurs ont donc servi à la cartographie et au marquage du gène de résistance dans la descendance du Brésil (PEM). Les résultats confirment qu'il s'agit bien du même gène majeur de résistance qui s'exprime en Guyane et au Brésil. Les données de carte sont très similaires entre les 2 analyses conduites séparément sur les descendants de Guyane et du Brésil respectivement. Le gène M2-FX est encadré par 2 marqueurs SSR situés à une distance de 5 cM.

3.2 PB260xMDF180 – PMB : La cartographie SSR a été initiée au second semestre 2009. Les 163 marqueurs SSR à cartographier ont été sélectionnés d'après la carte du parent résistant MDF180, construite sur la descendance de Guyane. En 2009, 84 SSR ont été génotypés sur la totalité de la descendance (171 descendants légitimes). Le calendrier d'achèvement de cette opération dépendra de la possibilité de recruter sur le projet du temps de technicien en 2010, en remplacement de C. Weber (voir ci-dessous « 9- Mouvements de personnel »).

3.3 WxFDR5597 – PMB : La cartographie SSR a été initiée au second semestre 2009. Le tri de polymorphisme a permis d'identifier 175 SSR hétérozygotes chez le parent résistant FDR5597. En 2009, 75 de ces marqueurs ont été génotypés sur la totalité de la descendance (269 descendants légitimes). Cette activité a débuté avec 4 mois de retard par rapport au « workplan » initial, mais se déroule à un rythme plus soutenu que ce qui était prévu, ce qui permet d'envisager de la conclure fin mars 2010, conformément aux prévisions.

4- Préparation et hybridation des membranes macro-arrays (A. Berger, V. Pujade-Renaud, D. Garcia / sous-projet 3) pour analyses d'expression des EST-SSH. Ces expérimentations ont été conduites en 2009 par A. Berger, principalement sur les banques SSH « PB260 vs RO38 » en prolongement du stage de Master de Marine Déon (2008), mais aussi, en appui à D. Garcia, pour les banques SSH « PB314 vs MDF180 ». D. Garcia a été accueilli à l'UMR-dap à Montpellier en Juin et Octobre 2009 pour la réalisation des hybridations de membranes haute-densité réalisées au Brésil (voir ci-dessus partie D-).

5- Développement de marqueurs EST-SSR (voir ci-dessus « faits marquants », K. Bouchata, V. Pujade-Renaud, P. Cubry, M. Seguin / sous-projet 2 ; voir ci-dessus partie D-)

- 6- Validation des gènes candidats par Q-PCR (V. Pujade-Renaud, E. Goujon / sous-projet 3) Le stage d'Eric Goujon (M1) a porté sur les mises-au-point méthodologiques qui permettront la validation par PCR en temps réel des gènes candidats identifiés à partir des banques différentielles (SSH) d'après leurs homologues de séquence ou leurs profils d'expression en macro-array. Trois protocoles d'extraction d'ARN ont été comparés ainsi que 4 gènes de référence potentiels. Les gènes β -actine et EF1- α s'avèrent appropriés en tant que gènes de référence dans nos conditions expérimentales. Finalement, l'ensemble du procédé a été validé par l'étude d'un gène candidat, la peroxydase, qui s'est révélé fortement stimulé 48h après inoculation par *M. ulei* chez le clone tolérant mais pas chez le sensible.
- 7- Evaluations complémentaires de la résistance au champ des descendances de cartographie au Brésil (F. Fonseca, F. Granet / sous-projet 1) : les passages d'observation ont été réalisés sur les plantations de PEM et PMB selon le planning prévu (8 passages sur 2008-2009). Les futures observations (4 autres passages) sont programmées sur 2010.
- 8- Création de nouvelles descendances, campagne de pollinisation manuelle 2009 (F. Fonseca, F. Granet, D. Garcia / sous-projet 1) : En 2009, il a été choisi de poursuivre la réalisation de croisements de 2ème génération par « rétro-croisement » d'individus F1 (IRCAxPFB5) sur un clone sensible Wickham: 7728 pollinisations manuelles du croisement RRIM600 x [IRCA109 x PFB5] et 7601 pollinisations manuelles du croisement IRCA109 x [IRCA109 x PFB5] ont été réalisées à PE. Le taux de réussite est pour chaque croisement respectivement de 1.68 % (130 fruits) et de 2.57 % (196 fruits).
- 9- Evaluation complémentaire de la résistance de la descendance PB260 x MDF180 en conditions contrôlées en Guyane (F. Doaré / sous-projet 1) :
 - 7.1- Fin des tests sur la descendance MDF180 x PB260, avec la souche équatorienne de *Microcyclus* CCGE 1.2.01, prévu pour fin janvier 2010. A ce jour, 196 descendants ont été évalués dont 170 avec 2 répétitions, pour la résistance en conditions d'inoculations contrôlées à l'aide de la souche équatorienne. La sensibilité / résistance des individus est mesurée en utilisant les paramètres habituels : Type de Réaction et Diamètre des Lésions. Suite à une panne de climatiseur en chambre d'inoculation, les tests ont été suspendus durant 20 jours courant février 2009 et il reste 32 descendants à inoculer une fois pour cette descendance.
 - 7.2- Pour la descendance PB260xRO38 « Vietnam », les descendants sont en cours de greffage à Combi et les pépinières de Kourou ont été préparées pour recevoir les plants. Les tests de résistance/sensibilité en conditions contrôlées commenceront en février 2010.
- 10- Mouvements de personnel :
 - 8.1- Comme indiqué dans le précédent compte-rendu, Mr Philippe Cubry a été recruté comme chercheur post-doctorant par Michelin à compter au 1^{er} Juillet 2009, pour une durée de 18 mois. Ce recrutement a permis d'augmenter, comme prévu, les activités du sous-projet 2, avec la cartographie des premiers gènes candidats par EST-SSR et l'envoi

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

de 21 clones BAC d'hévéa à séquencer (technologie 454-Roche, sous-traitance par les sociétés GATC et Beckman-Coulter)

8.2- Mr Eric Cavaloc (Michelin, Brésil), ayant pris de nouvelles fonctions, a été remplacé pour le projet par Mr Cassio Scomparin (Michelin, Clermont-Ferrand).

M. Fonseca Fernando (Brésil) a été remplacé par M. Franca Enquises.

8.3- Remplacement de C. Weber (voir compte-rendu précédent) : une demande d'ouverture de poste de technicien de laboratoire en génotypage a été transmise par l'UMR-dap à la direction du Cirad pour la campagne de recrutement 2010. Dans le cas où un recrutement interviendrait avant le second semestre 2010, il serait encore possible de réaliser le volume prévu de manipulation en génotypage avant la fin du projet.

F. Etat financier et ressources humaines

Bref descriptif de l'état de consommation des crédits

CIRAD	Crédits consommés (en %)	Commentaire éventuel
Main d'œuvre (tous statuts confondus)	71	Implication du personnel Cirad (permanents + stagiaires) réalisé comme prévu sauf 0.3 ETP en 2009 de C. Weber.
Equipement	-	Pas d'achat d'équipement prévu dans le projet
Mission	76	- Déplacements Arles 2008 ; 2 missions Brésil prévues en 2009 - Missions France – Brésil de 3 agents Cirad, du 28/02 au 12/03/09 (CP GENESALB et Comité Technique CMB) - Déplacement Clermont-Ferrand 24-25/09/09 (CP GENESALB)
Fonctionnement/prestations	60	

MICHELIN	Crédits consommés (en %)	Commentaire éventuel
Main d'œuvre (tous statuts confondus)	49	Ce chiffre ne tient compte que des ETPs France. Les modalités d'intégration des dépenses de personnel relatives au Brésil n'étant à ce jour pas définies
Equipement	-	Pas d'achat d'équipement prévu dans le projet
Mission	70	- Déplacements Montpellier / Clermont - Missions France – Brésil, (1 personne en 2008, 2 personnes en 2009)
Fonctionnement/prestations	72	64,7 k€ dépensés sur les 90 k€ de séquençage prévu (72%). Les dépenses de prestations Brésil ne sont pas intégrées dans ce chiffre

En cas de variation supérieure à 30%, d'une ligne par rapport au budget prévisionnel, en donner les éléments justificatifs.

	Fiche compte-rendu semestriel d'activité		Date : 09/07/2007
			Réf.: ANR/
			Nombre de pages : 4

Bilan des CDD cumulés depuis le début du projet

	nombre de personnes employées en CDD sur le projet et financées par l'ANR	
	nombre	h-mois cumulés sur tous les partenaires depuis le début du projet
Doctorants	1	1-mois en 2008 (thèse V. Le Guen, soutenue le 12/12/08)
Post-docs	1	6-mois sur 2009 ; recrutement par Michelin au 01/07/09 de Mr Philippe Cubry, sur un contrat post-doc de 18-mois
Ingénieur en CDD	-	
Stagiaires	3	1) 7-mois en 2008, Master 2 : Mlle Marine Déon 2) 4-mois en 2009, Master 2 : Mlle Karima Bouchata 3) 3-mois au 1 ^{er} semestre 2009, Master 1 : Mr Eric Goujon
Technicien en CDD	1	18-mois (Mme Sandra Espéout, contrat Michelin du 01/04/08 au 30/09/09)

Commentaire général à l'appréciation du coordinateur, sur l'état d'avancement du projet, les interactions entre les différents partenaires...

Globalement, les activités de recherche se déroulent conformément au calendrier prévu.

En l'absence d'un technicien Cirad affecté au projet pour le génotypage, certaines activités sont reportées au 2^{ème} semestre 2010 : 1) cartographie SSR et AFLP de la descendance PB260 x RO38 « Vietnam » de Guyane, 2) cartographie AFLP de la descendance PB260xFX2784, 3) achèvement de la cartographie SSR de la descendance PB260xMDF180 du Brésil (PMB).

Les évaluations de résistance/sensibilité des descendance en Guyane ont également pris du retard en raison 1) d'une panne de climatiseur de la chambre d'inoculation ; 2) d'une sous-estimation du temps et des coûts de cette opération ; ces coûts avaient été évalués, à la soumission du projet (en 2007), en suivant la règle Génoplante, pour des évaluations au champ, d'un « coût forfaitaire par parcelle » qui avait été adaptée pour une plante pérenne comme l'hévéa, mais qui ne s'avère pas tout à fait correcte.

La coordination du projet est assurée et facilitée par des échanges très réguliers, plusieurs fois par mois, entre les responsables d'équipe des 2 partenaires Cirad (M. Seguin) et Michelin (F. Granet) et la tenue de réunions du comité de pilotage auxquelles participent tous les intervenants du projet, localement présents.

	Fiche compte- rendu semestriel d'activité	Date : 09/07/2007
		Réf.: ANR/
		Nombre de pages : 4

--

<p>Facultatif : commentaire(s) de partenaire(s)...</p>
--

<p>Facultatif : question(s) posée(s) à l'ANR...</p>
